

微小按蚊实验室养殖的研究

叶奕英 许政拱 何登贤 赵邦权

(广西医学院寄生虫学教研室)

我室于 1977 年开始进行微小按蚊 (*Anopheles minimus*) 在实验室养殖的研究。迄今国外关于微小按蚊养殖的研究仅有依靠强迫交配繁殖传代的报告。我们经过将近 3 年的养殖研究, 终于成功地能使微小按蚊在实验室自然交配连续传代, 大量繁殖。现将结果报道如下。

方法与结果

1977 年 10 月自广西凌云县采得微小按蚊一批, 携回实验室饲以豚鼠血, 共计 77 只吸血。这批按蚊共产下卵 4,103 粒, 孵得幼虫 2,646 条, 获得了实验室饲养的第一代微小按蚊。最初我们用强迫交配技术传代; 自 13 代起, 用强迫交配和自然交配相交替的方法繁殖传代。自 32 代开始已能完全依靠自然交配连续传代, 目前已饲养至 39 代。养蚊室温度为 26℃, 相对湿度为 70—80%, 室内仅可透入少量自然光线, 故白天需以萤光灯光照 12 小时。

卵 将产下的卵收集于尼龙布上, 置于铺有薄层湿棉垫的平皿内。在 26℃ 条件下, 卵期约 48 小时。当胚胎发育成熟后, 卵入水 1 小时内即可孵出 93.6% 的幼虫, 4 小时内孵出的幼虫数已达 98.3%, 以后 20 小时内孵出的幼虫只占 1.7%。根据我们饲养第一年的观察, 卵的孵化率最低为 54.5%, 最高为 86.7%, 平均 71.3%。孵化率的高低与季节无明显关系。解剖未孵化的蚊卵只有 1.9% 含有死亡胚胎, 余均为未受精卵。

微小按蚊卵胚胎发育成熟后在潮湿环境中即可孵出; 而湿度较低时又易死亡, 故不易保存。曾将刚产下的蚊卵保存于 4℃ 冰箱内和 12°—15℃ 的条件下, 逐日取出 200—300 粒卵观察其孵化情况 (见表 1)。结果表明在 4℃ 保存的卵第 3 天孵化率即显著下降, 第 5 天已全部不能孵化; 而在 12—15℃ 则可保存 10 天。

表 1 微小按蚊卵在低温下保存不同天数的孵化百分率

保存天数	1	2	3	4	5	6	8	10	12	对 照
4℃	43.34	45.68	28.25	3.38	0					63.08
12—15℃		60.69		51.39		62.96	44.14	43.93	3.27	71.29

幼虫 幼虫饲养于 30 × 20 × 5 厘米的长方形搪瓷盘内, 水深约 3 厘米。以纯酵母粉为饲料。1 龄幼虫每日喂 1 次, 每次约 4 毫克 (以 200 条幼虫/盘为单位); 蜕皮后增为 2 次, 每次约 6 毫克; 3、4 龄幼虫增至 4 次, 每次 20—30 毫克。第 1 龄幼虫经 2—3 天蜕皮, 其他各期一般均为 2 天, 故幼虫期为 8—9 天。

幼虫饲养必须注意以下几个问题:

本文于 1980 年 9 月收到。

本文承陆宝麟教授提供宝贵意见, 谨志谢忱。

1. 饲养幼虫的水,特别是含碳酸盐类较多的地下水,需经煮沸,否则水面易形成一层极薄的膜,影响幼虫呼吸、活动及摄食,常使 1—2 龄幼虫大量死亡。

2. 保持水体清洁。每日开始工作时应逐盘检查水面,将残留的饲料除去,并用吸管吸去沉在水底的食物残渣,然后补充适量清水。

3. 饲料量必须合适。饲料过少影响幼虫生长发育, 过多时又影响水的清洁度和 1、2 龄幼虫的活动和呼吸。饲料的多少以撒布酵母粉时能在水面迅速扩散为度。

4. 饲养密度必须合适。我们曾观察幼虫饲养密度与发育速度和存活的关系,结果见表 2。在 30×20 厘米面积的搪瓷盘中,饲养 100 条幼虫最为适宜,至多不超过 200 条,否则幼虫发育迟缓,蛹小,幼虫死亡率亦高。

表 2 幼虫饲养密度与发育速度和存活的关系

每盘幼虫数	观察盘数	幼虫总数	幼 虫 期 (天)	化蛹总数	幼虫存活率 (%)
100	8	800	8—14	764	95.50(92.0—100.0)
200	15	3,000	8—17	2,575	85.83(65.0—97.0)
300	12	3,600	9—18	2,812	78.11(52.33— 92.67)
400	5	2,000	10—19	1,364	68.20(53.75—83.5)

蛹 每晨吸蛹置瓷碗中,用清水洗净。每碗约 300—400 只,放置蚊笼中羽化。必须同样注意用水问题,否则水面形成的薄膜可使蛹窒息致死,已羽化的成蚊也将粘附于水面而不能起飞。化蛹时间以晚上居多 (62.57%), 蛹期为 36—48 小时。 蛹的羽化率极高, 为 98.1% (95.5—100%)。雌雄比例为 47.7:52.3, 雄蚊略多于雌蚊。雄蚊羽化时间略早于雌蚊。

成蚊 成蚊饲养于 22×22×30 厘米的木框尼龙纱蚊笼中,笼内悬挂浸渍 20% 葡萄糖液的棉球作为饲料,并放置湿纱布条,笼外覆盖湿毛巾以保持湿度。

一、强迫交配

雌蚊羽化后第 3 天喂豚鼠血,饱食的雌蚊即在当天作强迫交配 (应用 Yang 1963 年的技术加以改良)。交配后的雌蚊除笼内置葡萄糖棉球和湿纱布条外,每晨仍喂豚鼠血。通常在强迫交配后 4—5 天即开始产卵于盛水的碗中。

强迫交配时雄蚊以 3—4 日龄为好,但即使 1—2 日龄蚊或老至 7—8 日龄,成功率仍可达 74% 左右。雄蚊交配一次后可继续使用,使用第 4 次的雄蚊仍可使雌蚊受孕,而且产卵数无明显差别,但孵化率则随雌蚊使用次数而有所下降 (见表 3),故强迫交配时雄蚊使用次数以不超过 2 次为宜。

将人工受孕的雌蚊单个饲养于马灯罩内,观察每个雌蚊的一次产卵数,共有 76 只产卵。54.2% 的雌蚊产卵数为 80—140 粒;76% 在 50 粒以上;平均为 86 粒。最多的一只雌蚊产卵 199 粒,最少为 8 粒。

表 3 人工交配雄蚊使用次数与雌蚊产卵数和孵化率的关系

雄蚊使用次数	交配雌蚊数	产卵雌蚊数 (%)	每只雌蚊平均产卵数	平均孵化率 (%)
第 1 次	30	13 (43.33)	93.7 (21—199)	69.46 (0—97.66)
第 2 次	39	19 (48.72)	91.1 (41—119)	58.97 (0—85.95)
第 3 次	34	15 (44.12)	63.1 (10—139)	47.61 (0—99.28)
第 4 次	26	12 (46.15)	103.7 (8—179)	43.11 (0—91.36)

用强迫交配的方法养殖一代微小按蚊约需 3 周左右,即:

卵 $\xrightarrow{2\text{天}}$ 幼虫 $\xrightarrow{8-9\text{天}}$ 蛹 $\xrightarrow{2\text{天}}$ 成蚊 $\xrightarrow{3\text{天}}$ 雌蚊吸血、交配 $\xrightarrow{4-5\text{天}}$ 雌蚊产卵

二、自然交配

自第 5 代起采用蓝色、绿色等光照方法试图刺激微小按蚊在 $22 \times 22 \times 30$ 厘米的普通小蚊笼中群舞交配,但均未获成功。自 13 代开始停用各种光照刺激,而改用长宽各 50 厘米、高 100 厘米的大蚊笼进行试验,放入蛹 3,000 只(据观察,羽化率一般接近 100%,雌、雄蚊比例约为 1:1,故雌雄蚊各略 1,500 只),结果收获卵 1,560 粒。由于蚊数过少,不适于继续自然交配,故采用强迫交配和自然交配交替进行的方法繁殖传代。第 15 代蚊 4,651 只,共收卵 4,417 粒,平均每只雌蚊产卵数有所提高。17 代以后产卵数突然显著下降,平均每一雌蚊仅产卵 0.1 粒,可能与进入冬季有关,随即中止试验。24 代起继续按上法试验,至 28 代每只雌蚊产卵数已上升为 7.8 粒。29 代改用普通小蚊笼,产卵数略有下降,但 32 代即回升,34 代每只雌蚊产卵数平均已达 23.03 粒(见图 1)。自 32 代以后完全依靠自然交配连续传代并大量繁殖。目前已饲养至 39 代,每只雌蚊产卵数已达 50 粒以上,与捕自野外者相仿。解剖 39 代自然交配的雌蚊 42 只,检查受精囊,发现 23 只含有精子,交配率已达 54.8%。

自然交配的雌蚊于羽化后第 3 天喂以豚鼠血。喂血后最早于第 3 天,大多为第 4 天,最迟第 6 天开始产卵。雌蚊一旦开始产卵,产卵期虽长达 15 天,但多数产在 7 天以内,此时所产卵占总数的 76.41%,尤以产卵开始后的 2—5 天为产卵高峰期(见图 2)。

三、成蚊寿命

曾观察 5 笼微小按蚊(每笼 400—500 只)的寿命,结果见图 3。雌蚊寿命最长达 38 天,雄蚊亦可活至 32 天。多数雌蚊较雄蚊死亡略早,如羽化后 10 天,雌蚊已死亡 13.3%,而雄蚊则为 7.4%;16 天时

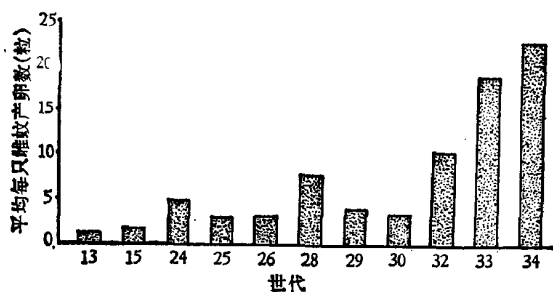


图 1 自然交配微小按蚊逐代产卵

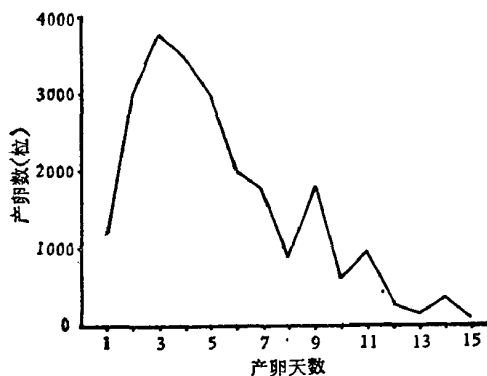


图 2 自然交配微小按蚊逐日产卵
(系根据第 33 代 1225 只雌蚊产卵 13,366 粒的结果)

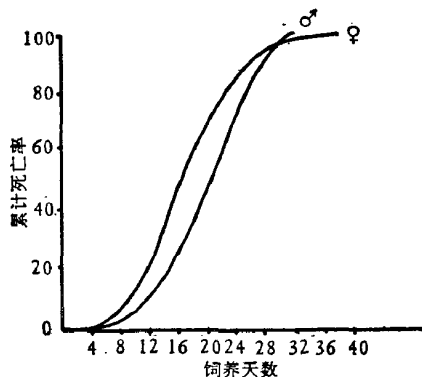


图 3 成蚊寿命

雌蚊已死亡 48.36%，而雄蚊仅 27.86%。至 20 天雄蚊累计死亡率为 46.19%，仅相当于雌蚊 16 天时的死亡率，而此时雌蚊的累计死亡率已达 67.15%。至 29 天时，雌雄蚊的累计死亡率相近似，分别为 96.9% 和 97.2%，仅少数雌蚊的寿命较雄蚊为长。

讨 论

微小按蚊不仅是我国南方山区的主要传疟媒介，而且也是东南亚地区的重要媒介。国外在 40 年代开始即有人试图建立实验室品系 (Muirhead-Thomson 1940; Santiago 1961; Harrison 1968)，但都未获成功。1970 年 Wilkinson 等为比较巴拉巴按蚊和微小按蚊对恶性疟原虫的易感性，用强迫交配的方法养殖了微小按蚊，然至今仍未见有关此蚊在实验室自然交配繁殖传代的报告。实验室养殖按蚊成功的关键在于解决自然交配问题。我国分布最广泛、适应性较强的中华按蚊在实验室饲养的第 1 代即有少数成蚊自然交配产卵，用蓝光干扰刺激法则可迅速提高其自然交配率。海南岛山林地区的野栖型巴拉巴按蚊国内于 1976 年即开始养殖研究，但直至 1980 年上海昆虫研究所在观察其群舞交配习性的基础上采用高笼诱导的方法才使自然交配初步获得成功。由此可见按蚊实验室养殖成功的难易主要取决于按蚊本身的生物学特性，如能掌握其在自然情况下交配繁殖的规律加以诱导即可收到事半功倍之效。我们在养殖微小按蚊过程中亦曾采用各种光照刺激的方法都未能奏效。最后采用大笼饲养，并以强迫交配与自然交配交替传代选育方法才获得成功。此法虽耗时较长，但在尚未充分掌握按蚊自然交配的生物学特性的情况下仍不失为解决自然交配问题的一种有效方法。

参 考 文 献

- 上海寄生虫病研究所疟疾研究室 1973 雷氏按蚊饲养繁殖方法的实验研究。疟疾研究(疟疾免疫专集) 104—5 页。
上海昆虫研究所 1980 巴拉巴按蚊实验室自然交配繁殖初步成功。疟疾研究(1967—1980 年成果选编) 127—8 页。
潘家复、韩罗珍 1979 中华按蚊实验室饲养的研究。昆虫学报 22: 41—4。
Gerberg, E. J. 1970 Manual for mosquito rearing and experimental techniques. AMCA Bull. 5: 27—43.
Ow Yang, C. K. et al. 1963 Maintenance of a laboratory colony of *Anopheles maculatus* Theobald by artificial mating. Mosq. News 23: 34—5.
Wilkinson, R. N. et al. 1974 Laboratory colonization of *Anopheles minimus* Theobald. Mosq. News 34: 29—32.

LABORATORY REARING OF *ANOPHELES MINIMUS*

YE YI-YING XU ZHENG-GONG HE DENG-XIAN SHAO BANG-QUAN

(Department of Parasitology, Guangxi Medical College)